

## *In Vitro* and *In Vivo* Care Studies of *Nelumbo nucifera* Extract for Osteosarcoma Disease

Miao LI <sup>1\*</sup>, Wanting HAO <sup>1\*</sup>, Jingyi DANG <sup>2</sup>, Huilin WANG <sup>3</sup>,  
Cuiling ZHANG <sup>1</sup>, Ge GAO <sup>1</sup> & Yao ZHANG <sup>\* 1</sup>

<sup>1</sup> Military Medical Center, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University,  
No.127, Changle West Road, Xi'an, Shaanxi, 710032, China

<sup>2</sup> Department of Orthopedics, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University,  
No.127, Changle West Road, Xi'an, Shaanxi, 710032, China

<sup>3</sup> Department of Orthopedics, Yutian Hospital, No.1, Neichayuan Road,  
Yutian County, Tangshan City, Hebei Province, 064199, China

**SUMMARY.** Osteosarcoma is the most prevalent bone tumor diagnosed in children and adolescents and is the third leading primary bone cancer in adults. In the present study effect of *Nelumbo nucifera* extract was evaluated on osteosarcoma cells and underlying mechanism was also investigated. The results demonstrated that *N. nucifera* extract treatment of 143B and U2OS cell led to a dose-dependent loss of cell viability. Incubation with *N. nucifera* extract for 72 h decreased the proliferation of 143B cells to 93 and 18%, respectively at 0.5 and 8 mg doses. Treatment with *N. nucifera* extract caused a prominent elevation in Bax and p21 protein expression and increase in Bcl-2 protein level in 143B and U2OS cells. It was observed that incubation with *N. nucifera* extract led to a prominent increase in AMPK activation in 143B and U2OS cells. Incubation with *N. nucifera* extract led to a prominent suppression in the level of H3K27me3 compared to the control. In conclusion, *N. nucifera* extract inhibits the proliferative potential of osteosarcoma cells via the activation of pro-apoptotic proteins. Moreover, activation of AMPK is upregulated whereas the H3K27me3 level is inhibited in 143B and U2OS cells osteosarcoma cells by *N. nucifera* extract treatment. Therefore, *N. nucifera* extract has great potential to inhibit the proliferation of osteosarcoma cells and therefore needs to be investigated further for the treatment of osteosarcoma.

**RESUMEN.** El osteosarcoma es el tumor óseo más prevalente diagnosticado en niños y adolescentes y es el tercer cáncer óseo primario en adultos. En el presente estudio, se evaluó el efecto del extracto de *Nelumbo nucifera* en las células de osteosarcoma y también se investigó el mecanismo subyacente. Los resultados demostraron que el tratamiento con extracto de *N. nucifera* de células 143B y U2OS condujo a una pérdida de viabilidad celular dependiente de la dosis. La incubación con extracto de *N. nucifera* durante 72 h disminuyó la proliferación de células 143B al 93 y 18 %, respectivamente, a dosis de 0,5 y 8 mg. El tratamiento con extracto de *N. nucifera* provocó una elevación importante en la expresión de la proteína Bax y p21 y un aumento en el nivel de la proteína Bcl-2 en las células 143B y U2OS. Se observó que la incubación con extracto de *N. nucifera* condujo a un aumento destacado en la activación de AMPK en células 143B y U2OS. La incubación con extracto de *N. nucifera* condujo a una supresión importante en el nivel de H3K27me3 en comparación con el control. En conclusión, el extracto de *N. nucifera* inhibe el potencial proliferativo de las células del osteosarcoma mediante la activación de proteínas proapoptóticas. Además, la activación de AMPK aumenta mientras que el nivel de H3K27me3 se inhibe en células 143B y U2OS en células de osteosarcoma mediante el tratamiento con extracto de *N. nucifera*. Por lo tanto, el extracto de *N. nucifera* tiene un gran potencial para inhibir la proliferación de células de osteosarcoma y, por lo tanto, debe investigarse más para el tratamiento del osteosarcoma.

**KEY WORDS:** Bax, Bcl-2, chemotherapy, *Nelumbo nucifera* extract, osteosarcoma,

# These two authors contributed equally.

\* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: 13572063510@163.com